

日本国特許庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D	09 OCT 1998
WIPO	PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application: 1997年 8月21日

出願番号  
Application Number: 平成 9年特許願第225302号

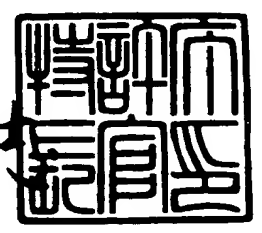
出願人  
Applicant(s): 武田薬品工業株式会社

PRIORITY DOCUMENT

1998年 9月25日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

伴佐山 建志



出証番号 出証特平10-3076293

【書類名】 特許願

【整理番号】 A97177

【提出日】 平成 9年 8月21日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K 31/41

【発明の名称】 抗炎症剤

【請求項の数】 10

【発明者】

    【住所又は居所】 兵庫県神戸市北区桂木2丁目12番地12

    【氏名】 小高 裕之

【発明者】

    【住所又は居所】 兵庫県宝塚市すみれが丘3丁目2番1-213号

    【氏名】 百瀬 祐

【特許出願人】

    【識別番号】 000002934

    【氏名又は名称】 武田薬品工業株式会社

    【代表者】 武田 國男

【代理人】

    【識別番号】 100073955

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 朝日奈 忠夫

【選任した代理人】

    【識別番号】 100077012

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 岩谷 龍

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 005142

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9000052

【包括委任状番号】 9000053

【プルーフの要否】 要

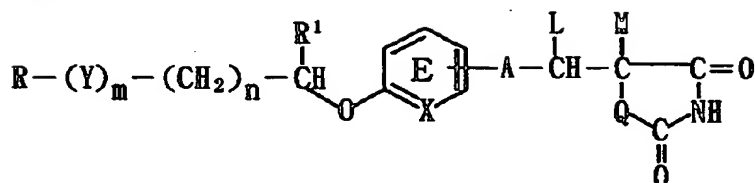
【書類名】明細書

【発明の名称】抗炎症剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】一般式

【化1】



〔式中、Rはそれぞれ置換されていてもよい炭化水素または複素環基；Yは-CO-、-CH(OH)-または-NR<sup>3</sup>-（ただしR<sup>3</sup>は置換されていてもよいアルキル基を示す。）で示される基；mは0または1；nは0、1または2；XはCHまたはN；Aは結合手または炭素数1～7の2価の脂肪族炭化水素基；Qは酸素原子または硫黄原子；R<sup>1</sup>は水素原子またはアルキル基をそれぞれ示す。環Eはさらに1～4個の置換基を有していてもよく、該置換基はR<sup>1</sup>と結合して環を形成していてもよい。LおよびMはそれぞれ水素原子を示すかあるいは互いに結合して結合手を形成していてもよい。〕で表される化合物またはその塩を含有してなり、TNF-α抑制効果を介して作用する抗炎症剤。

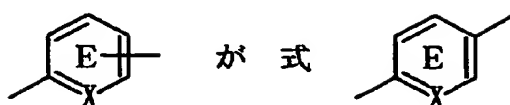
【請求項2】Rで示される複素環基が、環構成原子として炭素原子以外に酸素原子、硫黄原子および窒素原子から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含有する5～7員の単環式複素環基または縮合複素環基である請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項3】Rが置換されていてもよい複素環基である請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項4】複素環基が、ピリジル、オキサゾリルまたはチアゾリル基である請求項3記載の抗炎症剤。

【請求項5】部分構造式

【化2】



である請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項6】XがCHである請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項7】R<sup>1</sup>が水素原子である請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項8】LおよびMが水素原子である請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項9】化合物が5-[4-[2-(5-エチル-2-ピリジル)エトキシ]ベンジル]-2,4-チアゾリジンジオンである請求項1記載の抗炎症剤。

【請求項10】化合物が(R)-(+)5-[3-[4-[2-(2-フリル)-5-メチル-4-オキサゾリルメトキシ]-3-メトキシフェニル]プロピル]-2,4-オキサゾリジンジオンである請求項1記載の抗炎症剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、TNF（腫瘍壊死因子）-αが関与する炎症性疾患の予防および治療剤として有用な抗炎症剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

TNF-αとチアゾリジン誘導体との関係について、例えば下記1)～4)の文献が知られている。

1) 特開平7-285864には、チアゾリジン誘導体がTNFの産生および応答反応を抑制することが記載されている。

2) 最新医学, 52巻, 6号, 95-102頁には、チアゾリジン誘導体がTNFαの発現を低下させ、TNFαによるインスリン抵抗性を改善することが記載されている。

3) エンドクリノロジー (Endocrinology), 134巻, 1号, 264-27

0頁, 1994年には、糖尿病動物をインスリン感受性増強剤ピオグリタゾンで治療することにより、TNF $\alpha$ およびその受容体のmRNAの過剰発現が少なくとも部分的に正常化されることが記載されている。

4) エンドクリノロジー (Endocrinology), 136巻, 4号, 1474-1481頁, 1995年には、インスリン感受性増強剤が、TNF $\alpha$ の抑制効果に拮抗することによって抗糖尿病活性をもたらすことが記載されている。

【0003】

一方、炎症性疾患とチアゾリジン誘導体との関係について、例えば下記5)～6)の文献が知られている。

5) WO96/34943には、サイトカインが媒介する自己免疫性、炎症性、またはアテローム性動脈硬化性疾患を、ヒト 12-リポキシゲナーゼ インヒビターで治療する方法が記載され、該ヒト 12-リポキシゲナーゼ インヒビターとして、ピオグリタゾン、すなわち5-[4-[2-(5-エチル-2-ピリジル)エトキシ]ベンジル]-2, 4-チアゾリジンジオンの例示がある。

6) ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (The Journal of Biological Chemistry), 271巻, 23号, 13515-13522頁, 1996年には、1-(3-アリル-4-オキシチアゾリジン-2-イリデン)-4-メチルチオセミカルバゾンなどのチアゾリジンジオン関連化合物が抗関節炎活性を有することが記載されている。

しかしながら、上記文献のいずれも、チアゾリジン誘導体がTNF- $\alpha$ が関与する炎症性疾患の予防および治療剤として有用であることを記載するものではない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

炎症反応は、生体に刺激が加わった時に起こる急性および慢性の様々な反応を含んでいる。このような反応の中には、異物排除を目的とした生体にとって有利な反応もあるが、生体組織の破壊をもたらすような不利な反応もある。従来、炎症の治療は、ステロイドや非ステロイド系抗炎症剤、免疫抑制剤等によって行われているが、これらの薬剤には、炎症時における不利な反応だけでなく、有利な

反応をも抑制するという問題点がある。よって、生体にとって不利な反応のみを抑制する薬剤が求められている。

また、炎症においては、種々のサイトカインが産生され、炎症反応を調節していると考えられているが、その中の一つであるTNF- $\alpha$ は、炎症の拡大、遷延に重要な役割を果たしていると考えられている。例えば、炎症性疾患である慢性関節リウマチにおいては、TNF- $\alpha$ の産生が亢進し、これが関節組織の破壊をもたらすと考えられている。

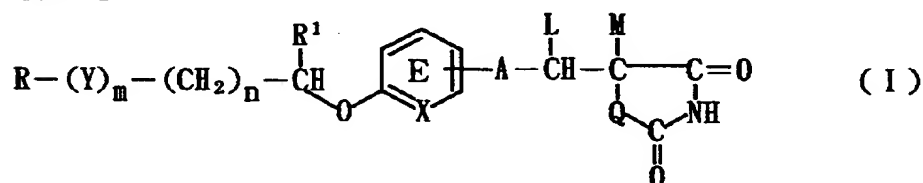
以上のことから、TNF- $\alpha$ が関与する炎症反応を特異的に抑制する薬剤は、副作用の少ない抗炎症剤として期待され、このような薬剤の開発が求められている。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明は、一般式

【化3】



〔式中、Rはそれぞれ置換されていてもよい炭化水素または複素環基；Yは-CO-、-CH(OH)-または-NR<sup>3</sup>-（ただしR<sup>3</sup>は置換されていてもよいアルキル基を示す。）で示される基；mは0または1；nは0、1または2；XはCHまたはN；Aは結合手または炭素数1～7の2価の脂肪族炭化水素基；Qは酸素原子または硫黄原子；R<sup>1</sup>は水素原子またはアルキル基をそれぞれ示す。環Eはさらに1～4個の置換基を有していてもよく、該置換基はR<sup>1</sup>と結合して環を形成していてもよい。LおよびMはそれぞれ水素原子を示すかあるいは互いに結合して結合手を形成していてもよい。〕で表される化合物またはその塩を含有してなり、TNF- $\alpha$ 抑制効果を介して作用する抗炎症剤に関する。

【0006】

Rで示される置換されていてもよい炭化水素基における炭化水素基としては、

脂肪族炭化水素基、脂環族炭化水素基、脂環族-脂肪族炭化水素基、芳香脂肪族炭化水素基、芳香族炭化水素基が挙げられる。これらの炭化水素基における炭素数は、好ましくは1～14である。

脂肪族炭化水素基としては、炭素数1～8の脂肪族炭化水素基が好ましい。該脂肪族炭化水素基としては、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec.-ブチル、t.-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、t.-ペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、オクチルなど炭素数1～8の飽和脂肪族炭化水素基（例、アルキル基等）；例えばエテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-ヘキセニル、3-ヘキセニル、2,4-ヘキサジエニル、5-ヘキセニル、1-ヘプテニル、1-オクテニル、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-ペンチニル、4-ペンチニル、1-ヘキシニル、3-ヘキシニル、2,4-ヘキサジイニル、5-ヘキシニル、1-ヘプチニル、1-オクチニルなど炭素数2～8の不飽和脂肪族炭化水素基（例、アルケニル基、アルカジエニル基、アルキニル基、アルカジイニル基等）が挙げられる。

脂環族炭化水素基としては、炭素数3～7の脂環族炭化水素基が好ましい。該脂環族炭化水素基としては、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルなど炭素数3～7の飽和脂環族炭化水素基（例、シクロアルキル基等）および1-シクロペンテニル、2-シクロペンテニル、3-シクロペンテニル、1-シクロヘキセニル、2-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、1-シクロヘプテニル、2-シクロヘプテニル、3-シクロヘプテニル、2,4-シクロヘプタジエニルなど炭素数5～7の不飽和脂環族炭化水素基（例、シクロアルケニル基、シクロアルカジエニル基等）が挙げられる。

【0007】

脂環族-脂肪族炭化水素基としては、上記脂環族炭化水素基と脂肪族炭化水素



基とが結合したもの（例、シクロアルキル-アルキル基、シクロアルケニル-アルキル基等）のが挙げられ、なかでも炭素数4～9の脂環族-脂肪族炭化水素基が好ましい。該脂環族-脂肪族炭化水素基としては、例えばシクロプロピルメチル、シクロプロピルエチル、シクロブチルメチル、シクロペンチルメチル、2-シクロペンテニルメチル、3-シクロペンテニルメチル、シクロヘキシルメチル、2-シクロヘキセニルメチル、3-シクロヘキセニルメチル、シクロヘキシルエチル、シクロヘキシルプロピル、シクロヘプチルメチル、シクロヘプチルエチルなどが挙げられる。

芳香脂環族炭化水素基としては、炭素数7～13の芳香脂環族炭化水素基（例、アラルキル基、アリール-アルケニル基等）が好ましい。該芳香脂環族炭化水素基としては、例えばベンジル、フェネチル、1-フェニルエチル、3-フェニルプロピル、2-フェニルプロピル、1-フェニルプロピルなど炭素数7～9のフェニルアルキル； $\alpha$ -ナフチルメチル、 $\alpha$ -ナフチルエチル、 $\beta$ -ナフチルメチル、 $\beta$ -ナフチルエチルなど炭素数11～13のナフチルアルキル；スチリル、4-フェニル-1,3-ブタジエニルなど炭素数8～10のフェニルアルケニル；2-(2-ナフチル)ビニルなど炭素数12～13のナフチルアルケニルなどが挙げられる。

芳香族炭化水素基としては、炭素数6～14の芳香族炭化水素基（例、アリール基等）が好ましい。該芳香族炭化水素基としては、例えばフェニル、ナフチル（ $\alpha$ -ナフチル、 $\beta$ -ナフチル）などが挙げられる。

#### 【0008】

一般式(I)中、Rで示される置換されていてもよい複素環基における複素環基としては、環構成原子として炭素原子以外に酸素原子、硫黄原子および窒素原子から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含有する5～7員の単環式複素環基または縮合複素環基が挙げられる。縮合複素環としては、例えばこのような5～7員の単環式複素環と、1ないし2個の窒素原子を含む6員環、ベンゼン環または1個の硫黄原子を含む5員環との縮合環が挙げられる。

複素環基の具体例としては、例えば2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、6-ピリミジニル

ル、3-ピリダジニル、4-ピリダジニル、2-ピラジニル、2-ピロリル、3-ピロリル、2-イミダゾリル、4-イミダゾリル、5-イミダゾリル、3-ピラゾリル、4-ピラゾリル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、2-チアゾリル、4-チアゾリル、5-チアゾリル、2-オキサゾリル、4-オキサゾリル、5-オキサゾリル、1,2,4-オキサジアゾール-5-イル、1,2,4-トリアゾール-3-イル、1,2,3-トリアゾール-4-イル、テトラゾール-5-イル、ベンズイミダゾール-2-イル、インドール-3-イル、1H-インダゾール-3-イル、1H-ピロロ〔2,3-b〕ピラジン-2-イル、1H-ピロロ〔2,3-b〕ピリジン-6-イル、1H-イミダゾ〔4,5-b〕ピリジン-2-イル、1H-イミダゾ〔4,5-c〕ピリジン-2-イル、1H-イミダゾ〔4,5-b〕ピラジン-2-イル、ベンゾピラニル、3,4-ジヒドロベンゾピラン-2-イル等が挙げられる。複素環基は、好ましくはピリジル、オキサゾリルまたはチアゾリル基である。

#### 【0009】

一般式(I)中、Rで示される炭化水素基および複素環基は、それぞれ置換可能な位置に1~5個、好ましくは1~3個の置換基を有していてもよい。該置換基としては、例えば脂肪族炭化水素基、脂環式炭化水素基、アリール基、芳香族複素環基、非芳香族複素環基、ハロゲン原子、ニトロ基、置換されていてもよいアミノ基、置換されていてもよいアシル基、置換されていてもよいヒドロキシ基、置換されていてもよいチオール基、エステル化されていてもよいカルボキシル基が挙げられる。

脂肪族炭化水素基としては、炭素数1~15の直鎖状または分枝状の脂肪族炭化水素基、例えばアルキル基、アルケニル基、アルキニル基等が挙げられる。

アルキル基の好適な例としては、炭素数1~10のアルキル基、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec.-ブチル、t.-ブチル、ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、t.-ペンチル、1-エチルプロピル、ヘキシル、イソヘキシル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、2-エチルブチル、ヘキシル、ペンチル、オクチル、ノニル、デシルなどが挙げられる。

アルケニル基の好適な例としては、炭素数2～10のアルケニル基、例えばビニル、アリル、イソプロペニル、1-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル、3-ブテニル、2-エチル-1-ブテニル、3-メチル-2-ブテニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-ペンテニル、4-ペンテニル、4-メチル-3-ペンテニル、1-ヘキセニル、2-ヘキセニル、3-ヘキセニル、4-ヘキセニル、5-ヘキセニルなどが挙げられる。

アルキニル基の好適な例としては、炭素数2～10のアルキニル基、例えばエチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-ペンチニル、4-ペンチニル、1-ヘキシニル、2-ヘキシニル、3-ヘキシニル、4-ヘキシニル、5-ヘキシニルなどが挙げられる。

#### 【0010】

脂環式炭化水素基としては、炭素数3～12の飽和または不飽和の脂環式炭化水素基、例えばシクロアルキル基、シクロアルケニル基、シクロアルカジエニル基などが挙げられる。

シクロアルキル基の好適な例としては、炭素数3～10のシクロアルキル基、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスクロ〔2.2.1〕ヘプチル、ビスクロ〔2.2.2〕オクチル、ビスクロ〔3.2.1〕オクチル、ビスクロ〔3.2.2〕ノニル、ビスクロ〔3.3.1〕ノニル、ビスクロ〔4.2.1〕ノニル、ビスクロ〔4.3.1〕デシルなどが挙げられる。

シクロアルケニル基の好適な例としては、炭素数3～10のシクロアルケニル基、例えば2-シクロペンテン-1-イル、3-シクロペンテン-1-イル、2-シクロヘキセン-1-イル、3-シクロヘキセン-1-イルなどが挙げられる。

シクロアルカジエニル基の好適な例としては、炭素数4～10のシクロアルカジエニル基、例えば2,4-シクロペンタジエン-1-イル、2,4-シクロヘキサジエン-1-イル、2,5-シクロヘキサジエン-1-イルなどが挙げられる。

アリール基とは、単環式または縮合多環式芳香族炭化水素基を意味し、好適な例としては、炭素数6～14のアリール基、例えばフェニル、ナフチル、アントリル、フェナントリル、アセナフチレニルなどが挙げられ、なかでもフェニル、1-ナフチル、2-ナフチルなどが好ましい。

# 【0011】

芳香族複素環基の好適な例としては、例えばフリル、チエニル、ピロリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、1,2,3-オキサジアゾリル、1,2,4-オキサジアゾリル、1,3,4-オキサジアゾリル、フラザニル、1,2,3-チアジアゾリル、1,2,4-チアジアゾリル、1,3,4-チアジアゾリル、1,2,3-トリアゾリル、1,2,4-トリアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニルなどの、環構成原子として炭素原子以外に酸素原子、硫黄原子および窒素原子から選ばれるヘテロ原子を1ないし4個含有する5～7員の芳香族単環式複素環基；例えばベンゾフラニル、イソベンゾフラニル、ベンゾ

[b] チエニル、インドリル、イソインドリル、1H-インダゾリル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、1,2-ベンゾイソオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、1,2-ベンゾイソチアゾリル、1H-ベンゾトリアゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、キナゾリニル、キノキサリニル、フタラジニル、ナフチリジニル、プリニル、プテリジニル、カルバゾリル、 $\alpha$ -カルボリニル、 $\beta$ -カルボリニル、 $\gamma$ -カルボリニル、アクリジニル、フェノキサジニル、フェノチアジニル、フェナジニル、フェノキサチイニル、チアントレニル、フェナトリジニル、フェナトロリニル、インドリジニル、ピロロ[1,2-b]ピリダジニル、ピラゾロ[1,5-a]ピリジル、イミダゾ[1,2-a]ピリジル、イミダゾ[1,5-a]ピリジル、イミダゾ[1,2-b]ピリダジニル、イミダゾ[1,2-a]ピリミジニル、1,2,4-トリアゾロ[4,3-a]ピリジル、1,2,4-トリアゾロ[4,3-b]ピリダジニルなどの、環構成原子として炭素原子以外に酸素原子、硫黄原子および窒素原子から選ばれるヘテロ原子を1ないし5個含有する2環性または3環性芳香族縮合複素環基などが挙げられる。

## 【0012】

非芳香族複素環基の好適な例としては、例えばオキシラニル、アゼチジニル、オキセタニル、チエタニル、ピロリジニル、テトラヒドロフリル、チオラニル、ピペリジル、テトラヒドロピラニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペラジニル、ピロリジノ、ピペリジノ、モルホリノ、チオモルホリノなどが挙げられる。

ハロゲン原子の例としてはフッ素、塩素、臭素およびヨウ素があげられ、とりわけフッ素および塩素が好ましい。

置換されていてもよいアミノ基としては、例えば炭素数1～10のアルキル基、炭素数3～10のシクロアルキル基、炭素数2～10のアルケニル基、炭素数3～10のシクロアルケニル基、炭素数1～13のアシル基（例、炭素数2～10のアルカノイル基、炭素数7～13のアリールカルボニル基等）または炭素数6～12のアリール基等でモノまたはジ置換されていてもよいアミノ基（ $-NH_2$ 基）が挙げられる。

置換されたアミノ基としては、例えばメチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、ジエチルアミノ、ジブチルアミノ、ジアリルアミノ、シクロヘキシルアミノ、アセチルアミノ、プロピオニルアミノ、ベンゾイルアミノ、フェニルアミノ、N-メチル-N-フェニルアミノ等が挙げられる。

置換されていてもよいアシル基におけるアシル基としては、炭素数1～13のアシル基、具体的にはホルミルその他例えば炭素数1～10のアルキル基、炭素数3～10のシクロアルキル基、炭素数2～10のアルケニル基、炭素数3～10のシクロアルケニル基、炭素数6～12のアリール基または芳香族複素環基（例、チエニル、フリル、ピリジルなど）とカルボニル基とが結合した基などが挙げられる。

アシル基の好適な例としては、例えばアセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ピバロイル、ヘキサノイル、ヘプタノイル、オクタノイル、シクロブタンカルボニル、シクロペンタンカルボニル、シクロヘキサンカルボニル、シクロヘプタンカルボニル、クロトニル、2-シクロヘキセンカルボニル、ベンゾイル、ニコチノイルなどが挙げられる。

置換されたアシル基における置換基としては、例えば炭素数1～3のアルキル、例えば炭素数1～3のアルコキシ基、ハロゲン（例、塩素、フッ素、臭素など）、ニトロ、ヒドロキシ、アミノ等が挙げられる。

【0013】

置換されていてもよいヒドロキシ基において、置換されたヒドロキシ基としては、例えばアルコキシ基、アルケニルオキシ基、アラルキルオキシ基、アシルオキシ基、アリールオキシ基等が挙げられる。

アルコキシ基の好適な例としては、炭素数1～10のアルコキシ基、例えばメトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、t-ブトキシ、ペンチルオキシ、イソペンチルオキシ、ネオペンチルオキシ、ヘキシルオキシ、ヘプチルオキシ、ノニルオキシ、シクロブトキシ、シクロペンチルオキシ、シクロヘキシルオキシ等が挙げられる。

アルケニルオキシ基の好適な例としては、炭素数2～10のアルケニルオキシ基、例えばアリル (allyl) オキシ、クロチルオキシ、2-ペンテニルオキシ、3-ヘキセニルオキシ、2-シクロペンテニルメトキシ、2-シクロヘキセニルメトキシ等が挙げられる。

アラルキルオキシ基の好適な例としては、炭素数7～10のアラルキルオキシ基、例えばフェニル-C<sub>1-4</sub>アルキルオキシ（例、ベンジルオキシ、フェネチルオキシなど）等が挙げられる。

アシルオキシ基の好適な例としては、炭素数2～13のアシルオキシ基、さらに好ましくは炭素数2～4のアルカノイルオキシ（例、アセチルオキシ、プロピオニルオキシ、ブチリルオキシ、イソブチリルオキシなど）等が挙げられる。

アリールオキシ基の好適な例としては、炭素数6～14のアリールオキシ基、例えばフェノキシ、ナフチルオキシ等が挙げられる。該アリールオキシ基は、1ないし2個の置換基を有していてもよく、このような置換基としては、例えばハロゲン（例、塩素、フッ素、臭素など）等が挙げられる。置換されたアリールオキシ基としては、例えば4-クロロフェノキシ等が挙げられる。

【0014】

置換されていてもよいチオール基において、置換されたチオール基としては、

例えばアルキルチオ基、シクロアルキルチオ基、アラルキルチオ基、アシルチオ基などが挙げられる。

アルキルチオ基の好適な例としては、炭素数1～10のアルキルチオ基、例えばメチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオ、ブチルチオ、イソブチルチオ、sec.-ブチルチオ、t.-ブチルチオ、ペンチルチオ、イソペンチルチオ、ネオペンチルチオ、ヘキシルチオ、ヘプチルチオ、ノニルチオ等が挙げられる。

シクロアルキルチオ基の好適な例としては、炭素数3～10のシクロアルキルチオ基、例えばシクロブチルチオ、シクロペンチルチオ、シクロヘキシルチオ等が挙げられる。

アラルキルチオ基の好適な例としては、炭素数7～10のアラルキルチオ基、例えばフェニル-C<sub>1-4</sub>アルキルチオ（例、ベンジルチオ、フェネチルチオなど）等が挙げられる。

アシルチオ基の好適な例としては、炭素数2～13のアシルチオ基、さらに好ましくは炭素数2～4のアルカノイルチオ基（例、アセチルチオ、プロピオニルチオ、ブチリルチオ、イソブチリルチオなど）等が挙げられる。

#### 【0015】

エステル化されていてもよいカルボキシル基としては、例えばアルコキシカルボニル基、アラルキルオキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基等が挙げられる。

アルコキシカルボニル基の好適な例としては、炭素数2～5のアルコキシカルボニル基、例えばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル等が挙げられる。

アラルキルオキシカルボニル基の好適な例としては、炭素数8～10のアラルキルオキシカルボニル基、例えばベンジルオキシカルボニル等が挙げられる。

アリールオキシカルボニル基の好適な例としては、炭素数7～15のアリールオキシカルボニル基、例えばフェノキシカルボニル、p-トリルオキシカルボニル等が挙げられる。

Rで示される炭化水素基および複素環基における置換基は、好ましくは炭素数

1～10のアルキル基、芳香族複素環基、炭素数6～14のアリール基であり、さらに好ましくは $C_{1-3}$ アルキル、フリル、チエニル、フェニル、ナフチルである。

【0016】

一般式(I)中、Rで示される炭化水素基および複素環基上の置換基は、それらが脂環式炭化水素基、アリール基、芳香族複素環基または非芳香族複素環基であるときはさらにそれぞれ適当な置換基を1個以上、好ましくは1～3個有していてもよく、このような置換基としては、例えば炭素数1～6のアルキル基、炭素数2～6のアルケニル基、炭素数2～6のアルキニル基、炭素数3～7のシクロアルキル基、炭素数6～14のアリール基(例、フェニル、ナフチルなど)、芳香族複素環基(例、チエニル、フリル、ピリジル、オキサゾリル、チアゾリルなど)、非芳香族複素環基(例、テトラヒドロフリル、モルホリノ、チオモルホリノ、ピペリジノ、ピロリジノ、ピペラジノなど)、炭素数7～9のアラルキル基、アミノ基、N-モノ( $C_{1-4}$ )アルキルアミノ基、N, N-ジ( $C_{1-4}$ )アルキルアミノ基、炭素数2～8のアシルアミノ基(例、アセチルアミノ、プロピオニルアミノ、ベンゾイルアミノなど)、アミジノ基、炭素数2～8のアシル基(例、炭素数2～8のアルカノイル基など)、カルバモイル基、N-モノ( $C_{1-4}$ )アルキルカルバモイル基、N, N-ジ( $C_{1-4}$ )アルキルカルバモイル基、スルファモイル基、N-モノ( $C_{1-4}$ )アルキルスルファモイル基、N, N-ジ( $C_{1-4}$ )アルキルスルファモイル基、カルボキシ基、炭素数2～8のアルコキシカルボニル基、ヒドロキシ基、炭素数1～4のアルコキシ基、炭素数2～5のアルケニルオキシ基、炭素数3～7のシクロアルキルオキシ基、炭素数7～9のアラルキルオキシ基、炭素数6～14のアリールオキシ基(例、フェニルオキシ、ナフチルオキシなど)、メルカプト基、炭素数1～4のアルキルチオ基、炭素数7～9のアラルキルチオ基、炭素数6～14のアリールチオ基(例、フェニルチオ、ナフチルチオなど)、スルホ基、シアノ基、アジド基、ニトロ基、ニトロソ基、ハロゲン原子(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素)などが挙げられる。

一般式(I)中、Rは、好ましくは置換されていてもよい複素環基である。Rは、さらに好ましくは $C_{1-3}$ アルキル、フリル、チエニル、フェニルおよびナフ



チルから選ばれる1ないし3個の置換基を有していてもよいピリジル、オキサゾリルまたはチアゾリル基である。

## 【0017】

一般式(I)中、Yは、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CH}(\text{OH})-$ または $-\text{NR}^3-$ を示すが、 $-\text{CH}(\text{OH})-$ または $-\text{NR}^3-$ が好ましく、さらに好ましくは $-\text{CH}(\text{OH})-$ である。ここにおいて、 $\text{R}^3$ で示される置換されていてもよいアルキル基におけるアルキル基としては、炭素数1~4のアルキル基、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec.-ブチル、t.-ブチルなどが挙げられる。また、置換基としては、例えばハロゲン(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素)、炭素数1~4のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec.-ブトキシ、t.-ブトキシなど)、ヒドロキシ基、ニトロ基、炭素数1~4のアシル基(例、ホルミル、アセチル、プロピオニルなど)などが挙げられる。 $\text{R}^3$ は、好ましくは炭素数1~4のアルキル基、特に好ましくはメチルである。

mは、0または1を示し、好ましくは0である。

nは、0、1または2を示し、好ましくは0または1である。

Xは、CHまたはNを示し、好ましくはCHである。

## 【0018】

一般式(I)中、Aは、結合手または炭素数1~7の2価の脂肪族炭化水素基を示す。該脂肪族炭化水素基は、直鎖状、分枝状のいずれでもよく、また飽和、不飽和のいずれでもよい。その具体例としては、例えば $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)-$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-$ 、 $-(\text{CH}_2)_4-$ 、 $-(\text{CH}_2)_5-$ 、 $-(\text{CH}_2)_6-$ 、 $-(\text{CH}_2)_7-$ の飽和のもの、例えば $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{C}_2\text{H}_5)=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ などの不飽和のものが挙げられる。Aは、好ましくは結合手または炭素数1~4の2価の脂肪族炭化水素基であり、該脂肪族炭化水素基は、さらに飽和であることが好ましい。Aは、さらに好ましくは結合手、 $-\text{CH}_2$

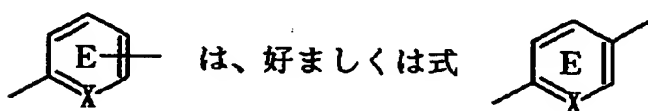
—または—(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>—であり、特に好ましくは結合手または—(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>—である。

R<sup>1</sup>で示されるアルキル基としては、炭素数1~4のアルキル基、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec.-ブチル、t.-ブチルなどが挙げられる。R<sup>1</sup>は、好ましくは水素原子である。

【0019】

一般式(I)中、部分構造式

【化4】



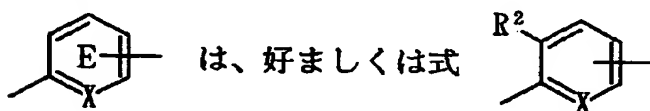
〔式中、各記号は前記と同意義を示す。〕である。

また、環Eは、置換可能な任意の位置に、さらに1ないし4個の置換基を有していてもよい。このような置換基としては、アルキル基、置換されていてもよいヒドロキシ基、ハロゲン原子、置換されていてもよいアシル基、ニトロ基、および置換されていてもよいアミノ基が挙げられる。これらは、いずれもRで示される炭化水素基および複素環基の置換基として述べたものと同様のものが用いられる。

【0020】

環E、すなわち部分構造式

【化5】



〔式中、R<sup>2</sup>は、水素原子、アルキル基、置換されていてもよいヒドロキシ基、ハロゲン原子、置換されていてもよいアシル基、ニトロ基または置換されていてもよいアミノ基を示す。〕である。

R<sup>2</sup>で示されるアルキル基、置換されていてもよいヒドロキシ基、ハロゲン原子、置換されていてもよいアシル基、および置換されていてもよいアミノ基とし

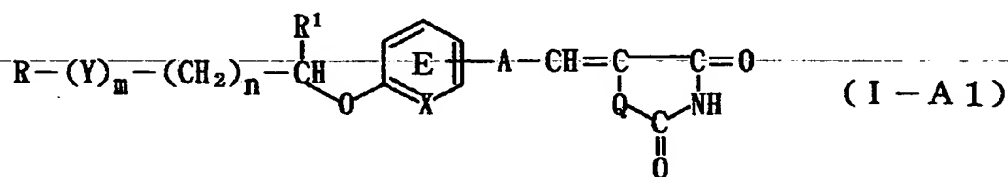
ては、いずれもRで示される炭化水素基および複素環基の置換基として述べたものと同様のものが挙げられる。 $R^2$ は、好ましくは水素原子、置換されていてもよいヒドロキシ基またはハロゲン原子である。 $R^2$ は、さらに好ましくは水素原子または置換されていてもよいヒドロキシ基であり、特に好ましくは水素原子または炭素数1~4のアルコキシ基である。

## 【0021】

LおよびMは、水素原子あるいは互いに結合して結合手を示すが、好ましくは水素原子である。

一般式(I)において、LとMが互いに結合して結合手を形成する化合物：

## 【化6】

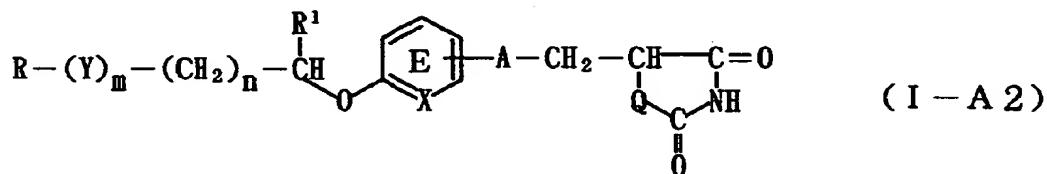


[式中、各記号は前記と同意義である。] には、アゾリジンジオン環の5位の二重結合に関し、(E) ー体および(Z) ー体が存在する。

## 【0022】

また、LおよびMがそれぞれ水素原子を示す化合物：

## 【化7】



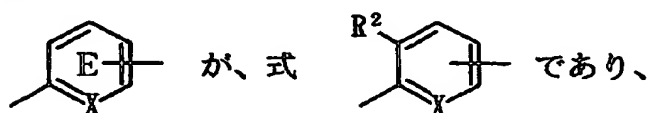
[式中、各記号は前記と同意義である。] には、アゾリジンジオン環の5位の不斉炭素による(R) ー体および(S) ー体の光学異性体が存在し、該化合物は、これら(R) ー体および(S) ー体の光学活性体およびラセミ体を含む。

## 【0023】

一般式(I)で表される化合物の好ましい例としては、例えば、RがC<sub>1-3</sub>アルキル、フリル、チエニル、フェニルおよびナフチルから選ばれる1ないし3個

の置換基を有していてもよいピリジル，オキサゾリルまたはチアゾリル基；Yが  
 $-\text{CH}(\text{OH})-$ または $-\text{NR}^3-$ （かつ $\text{R}^3$ がメチル）；nが0または1；Xが  
 $\text{CH}$ ；Aが結合手または $-(\text{CH}_2)_2-$ ； $\text{R}^1$ が水素原子；環Eすなわち部分構  
 造式

【化8】



かつ $\text{R}^2$ が水素原子または $\text{C}_{1-4}$ アルコキシ基；LおよびMが水素原子である化合  
 物が挙げられる。

【0024】

一般式（I）で表される化合物の好ましい具体例としては、例えば

- 1) 5-〔4-〔2-(5-エチル-2-ピリジル)エトキシ〕ベンジル〕-2  
 , 4-チアゾリジンジオン,
- 2) 5-〔4-〔2-ヒドロキシ-2-(5-メチル-2-フェニル-4-オキ  
 サゾリル)エトキシ〕ベンジル〕-2, 4-チアゾリジンジオン,
- 3) (R)-(+) - 5-〔3-〔4-〔2-(2-フリル)-5-メチル-4  
 -オキサゾリルメトキシ〕-3-メトキシフェニル〕プロピル〕-2, 4-オキ  
 サゾリジンジオン,
- 4) (S)-(-) - 5-〔3-〔4-〔2-(2-フリル)-5-メチル-4  
 -オキサゾリルメトキシ〕-3-メトキシフェニル〕プロピル〕-2, 4-オキ  
 サゾリジンジオン,
- 5) 5-〔3-〔3-フルオロ-4-(5-メチル-2-フェニル-4-オキサ  
 ゾリルメトキシ)フェニル〕プロピル〕-2, 4-オキサゾリジンジオン,
- 6) 5-〔5-〔3-メトキシ-4-(5-メチル-2-フェニル-4-オキサ  
 ゾリルメトキシ)フェニル〕ペンチル〕-2, 4-オキサゾリジンジオン,
- 7) 5-〔3-〔3, 5-ジメトキシ-4-〔2-〔(E)-スチリル〕-4-  
 オキサゾリルメトキシ〕フェニル〕プロピル〕-2, 4-オキサゾリジンジオン

8) 5-〔〔4-〔(3, 4-ジヒドロ-6-ヒドロキシ-2, 5, 7, 8-テトラメチル-2H-1-ベンゾピラン-2-イル)メトキシ〕フェニル〕メチル〕-2, 4-チアゾリジンジオン,

9) 5-〔〔4-〔2-(メチル-2-ピリジルアミノ)エトキシ〕フェニル〕メチル〕-2, 4-チアゾリジンジオンなどが挙げられる(これらの化合物を、以下、単に化合物No. 1、化合物No. 2などと略記することがある)。これらのうち、化合物No. 1, 3, 8および9が好ましく、特に化合物No. 1および3が好ましい。

# 【0025】

本発明の化合物(I)の塩としては、薬理学的に許容される塩が好ましく、例えば無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などが挙げられる。

無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩などが挙げられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩が挙げられる。

無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸などとの塩が挙げられる。

有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸などとの塩が挙げられる。

塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルニチンなどとの塩が挙げられ、酸性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩が挙げられる。

上記した塩の中でも、塩酸塩、ナトリウム塩、カリウム塩が最も好ましい。

## 【0026】

本発明の化合物(I)またはその塩は、例えば特開昭55-22636(EP-A-8203)、特開昭60-208980(EP-A-155845)、特開昭61-286376(EP-A-208420)、特開昭61-085372(EP-A-177353)、特開昭61-267580(EP-A-193256)、特開平5-86057(WO-A-9218501)、特開平7-82269(EP-A-605228)、特開平7-101945(EP-A-612743)、EP-A-643050およびEP-A-710659(特開平9-194467)等に記載の方法あるいはそれに準ずる方法により製造することができる。

## 【0027】

本発明の化合物(I)またはその塩(以下、単に本発明化合物と略記する)は、TNF- $\alpha$ 抑制効果を介して作用する抗炎症剤として有用である。また、本発明化合物の毒性は低い。ここで、TNF- $\alpha$ 抑制効果は、生体組織(例、骨格筋、単球、マクロファージ、好中球、繊維芽細胞、上皮細胞、アストロサイト等)におけるTNF- $\alpha$ 産生量の低下効果またはTNF- $\alpha$ 活性低下効果である。

本発明の抗炎症剤は、哺乳動物(例、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、サル等)に対し、TNF- $\alpha$ が関与する炎症性疾患の予防および治療剤として用いられる。このような炎症性疾患としては、例えば糖尿病性合併症(例、網膜症、腎症、神経障害、大血管障害等)、慢性関節リウマチ、変形性脊椎症、変形性関節炎、腰痛、痛風、手術外傷後の炎症、腫脹の緩解、神経痛、咽喉頭炎、膀胱炎、肝炎、肺炎等が挙げられる。

## 【0028】

本発明の抗炎症剤は、本発明化合物をそのまま用いてもよいが、通常本発明化合物と自体公知の薬理学的に許容される担体などとを混合して得られる医薬組成物として用いられる。

ここにおいて、薬理学的に許容される担体としては、製剤素材として慣用の各種有機あるいは無機担体物質が用いられ、固形製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤；液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝

剤、無痛化剤などとして配合される。また必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤などの製剤添加物を用いることもできる。

賦形剤の好適な例としては、例えば乳糖、白糖、D-マンニトール、デンプン、結晶セルロース、軽質無水ケイ酸などが挙げられる。

滑沢剤の好適な例としては、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、コロイドシリカなどが挙げられる。

結合剤の好適な例としては、例えば結晶セルロース、白糖、D-マンニトール、トレハロース、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

崩壊剤の好適な例としては、例えばデンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウムなどが挙げられる。

#### 【0029】

溶剤の好適な例としては、例えば注射用水、アルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、ゴマ油、トウモロコシ油、トリカプリリンなどが挙げられる。

溶解補助剤の好適な例としては、例えばポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、トレハロース、安息香酸ベンジル、エタノール、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。

懸濁化剤の好適な例としては、例えばステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリンなどの界面活性剤；例えばポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどの親水性高分子などが挙げられる。

等張化剤の好適な例としては、例えば塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトールなどが挙げられる。

緩衝剤の好適な例としては、例えばリン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩などの緩衝液などが挙げられる。

無痛化剤の好適な例としては、例えばベンジルアルコールなどが挙げられる。

防腐剤の好適な例としては、例えばパラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸などが挙げられる。

抗酸化剤の好適な例としては、例えば亜硫酸塩、アスコルビン酸などが挙げられる。

### 【0030】

上記医薬組成物は、製剤技術分野において慣用の方法、例えば日本薬局方に記載の方法等により製造することができる。

また、医薬組成物の剤形としては、例えば錠剤、カプセル剤（ソフトカプセル、マイクロカプセルを含む）、散剤、顆粒剤、シロップ剤等の経口剤；および注射剤、坐剤、ペレット、点滴剤等の非経口剤が挙げられ、これらはそれぞれ経口的あるいは非経口的に安全に投与できる。

本発明の抗炎症剤の投与量は、投与対象、投与ルート、症状などによっても異なるが、例えば成人の患者に対して経口投与する場合、有効成分である本発明化合物を通常1回量として約0.1 mg/kg～約30 mg/kg、好ましくは約2 mg/kg～約20 mg/kg投与することが好ましく、この量を1日1～3回投与するのが望ましい。

### 【0031】

#### 【発明の実施の形態】

#### 【実施例】

以下、実施例及び試験例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

#### 実施例1

化合物No. 1の塩酸塩2479.5g（化合物No. 1として2250g）、乳糖13930.5gおよびカルボキシメチルセルロースカルシウム（カルメロースカルシウム）540gを流動造粒乾燥機（パウレック社製）に入れ、予熱混合し、ヒドロキシプロピルセル



ローズ450gを溶解した水溶液7500gをスプレーして、造粒末を得た。得られる造粒末16820gをカッターミル（昭和化学機械工作所製）を通し、整粒末とした。得られる整粒末16530gとカルメロースカルシウム513gおよびステアリン酸マグネシウム57gをタンブラー混合機（昭和化学機械工作所製）を用いて混合末とし、この混合末16800gを打錠機（菊水製作所製）により打錠し、1錠あたり化合物No. 1を15mg含有する下記組成の錠剤140,000錠を得た。

錠剤1錠あたりの組成（単位：mg）：

1) 化合物No. 1の塩酸塩	16.53
2) 乳糖	92.87
3) カルメロースカルシウム	7.2
4) ヒドロキシプロピルセルロース	3.0
5) ステアリン酸マグネシウム	0.4
計	120.0

【0032】

#### 実施例2

実施例1と同様にして、1錠あたり化合物No. 1を30mg含有する下記組成の錠剤140,000錠を得た。

錠剤1錠あたりの組成（単位：mg）：

1) 化合物No. 1の塩酸塩	33.06
2) 乳糖	76.34
3) カルメロースカルシウム	7.2
4) ヒドロキシプロピルセルロース	3.0
5) ステアリン酸マグネシウム	0.4
計	120.0

【0033】

#### 実施例3

実施例2と同様にして、1錠あたり化合物No. 1を45mg含有する下記組成の錠剤140,000錠を得た。

錠剤1錠あたりの組成（単位：mg）：

1) 化合物No. 1 の塩酸塩	49.59
2) 乳糖	114.51
3) カルメロースカルシウム	10.8
4) ヒドロキシプロピルセルロース	4.5
5) ステアリン酸マグネシウム	0.6
計	180.0

【0034】

試験例1 (血中TNF- $\alpha$ 量低下作用)

遺伝性肥満・糖尿病モデルであるKKA<sup>y</sup>マウスを用いて、血漿中のTNF- $\alpha$ 量を測定し、本発明化合物のTNF- $\alpha$ 抑制効果を評価した。

すなわち、遺伝性肥満・糖尿病モデルであるKKA<sup>y</sup>マウスの雄(10週齢)18匹を2群(各9匹)に分け、一群(対照群)には市販の粉末飼料(CE-2、日本クレア社製)を、他群(薬物投与群)には化合物No. 1の塩酸塩0.001% (w/w)を含有する上記粉末飼料を自由に摂取させ、4日間飼育した。マウス1匹当たりの平均薬物投与量は16mg/kg体重/日であった。4日目にマウスを屠殺して、ヘパリン入りチューブに血液を採取した。

採取した血液を遠心分離し、血漿中のTNF- $\alpha$ を、ビオチン-ストレプトアビジン法に基づく酵素免疫測定法によって定量した。すなわち、96穴ポリスチレンマイクロタイタープレート〔ファルコン (Falcon) 社、米国〕の各ウェル (well) に、0.05M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.0) で希釈した抗TNF- $\alpha$ 抗体 IgG〔ゲンザイム (Genzyme) 社、米国〕(100  $\mu$ g/ml) を5  $\mu$ l ずつ加え、室温で2時間放置して、抗TNF- $\alpha$ 抗体 IgG を吸着させた。過剰の抗体溶液を除去後、各ウェルを0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.6) [0.4M 塩化ナトリウム、0.1% (w/w) ウシ血清アルブミン、0.1% (w/w) ウシ血清アルブミン、0.1% (w/w) アジ化ナトリウム、1 mM 塩化マグネシウムを含有] (以下、洗浄緩衝液と略記) で洗浄した。

【0035】

各ウェルに血漿あるいはTNF- $\alpha$ の標準溶液〔セロテック (Serotec) 社、英国〕10  $\mu$ l を加えて、室温で2.5時間放置した。各ウェルを洗浄緩衝液で洗浄後

、洗浄緩衝液で希釈したビオチン化抗TNF- $\alpha$ 抗体IgG溶液(35ng/ml)を20 $\mu$ lずつ加え、4℃で1晩放置した。各ウェルを洗浄緩衝液で洗浄後、洗浄緩衝液で6,000倍希釈した $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ標識ストレプトアビジン〔ベーリンガーマンハイム(Boehringer Mannheim) GmbH社、ドイツ〕20 $\mu$ lを加え、室温で1時間放置した。

ついで、各ウェルを洗浄緩衝液で洗浄後、固相に固定された免疫複合体の $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ活性を測定した。すなわち、各ウェルに基質〔60mM 4-メチルウンベリフェリル- $\beta$ -D-ガラクトシド、シグマ(Sigma)社、米国〕を30 $\mu$ lずつ加え、酵素反応を開始した。室温で4時間反応後、0.1Mグリシン-水酸化ナトリウム緩衝液(pH10.3) 0.13mlを加えて酵素反応を停止した。生成した4-メチルウンベリフェロンの蛍光強度を、蛍光光度計〔サイト・フルオー(Cyto Fluor) II、パーセプティブ・バイオシステムズ(PerSeptive Biosystems)社、米国〕を用いて、励起波長350nm、測定波長460nmで測定した。

次に、得られる蛍光強度から、別途作成したTNF- $\alpha$ の用量作用曲線を用いてTNF- $\alpha$ 量を算出した。

結果を〔表1〕に示す。

【表1】 血漿中のTNF- $\alpha$ 量(pg/ml)

対照群	薬物投与群(本発明)
4.97 $\pm$ 1.75	1.52 $\pm$ 1.08**

平均値 $\pm$ 標準偏差；対照群に対する有意差(\*\*：p<0.01)

〔表1〕から明らかなように、本発明化合物は、マウス血漿中のTNF- $\alpha$ 量を有意に低下させた。

#### 【0036】

##### 試験例2(血中TNF- $\alpha$ 量低下作用)

遺伝性肥満・糖尿病モデルであるウィスターファティー(Wistar fatty)ラットを用いて、血漿中のTNF- $\alpha$ 量を測定し、本発明化合物のTNF- $\alpha$ 抑制効

果を評価した。

すなわち、遺伝性肥満・糖尿病モデルであるウイスターファティー (Wistar fatty) ラットの雄 (16週齢) に、化合物No. 1 の塩酸塩を 3 mg/kg体重/日の用量で強制経口投与した。薬物投与前、薬物投与 1, 2, 3 および 4 日後に、ラット 10匹ずつを屠殺し、血液を採取した。

また、対照群として、ウイスターリーン (Wistar lean) ラットの雄 (16週齢) 10匹を、薬物投与せずに屠殺し、血液を採取した。

採取した血液を遠心分離し、血漿中の TNF- $\alpha$  を、試験例 1 と同様にして定量した。

結果を〔表 2〕に示す。

〔表 2〕 血漿中の TNF- $\alpha$  量 (pg/ml)

	薬物投与後の日数	TNF- $\alpha$ 量 (pg/ml)
対照群	0 (投与前)	56.9 $\pm$ 47.5
本発明	0 (投与前)	139.5 $\pm$ 50.0
	1	109.9 $\pm$ 61.0
	2	115.1 $\pm$ 59.0
	3	69.9 $\pm$ 64.3
	4	67.2 $\pm$ 70.6*

平均値  $\pm$  標準偏差；本発明 (Wistar fatty ラット使用) の薬物投与 0 日 (投与前) 群に対する有意差 (\* :  $p < 0.05$ )

〔表 2〕 から明らかなように、本発明化合物は、ラット血漿中の TNF- $\alpha$  量を経時的に低下させた。

【0037】

試験例 3 (骨格筋中 TNF- $\alpha$  量低下作用)

遺伝性肥満・糖尿病モデルであるウイスターファティー (Wistar fatty) ラッ

トを用いて、骨格筋中のTNF- $\alpha$ 量を測定し、本発明化合物のTNF- $\alpha$ 抑制効果を評価した。

すなわち、遺伝性肥満・糖尿病モデルであるウィスターファティー (Wistar fatty) ラットの雄 (16週齢) に、化合物No.1の塩酸塩を試験例2と同様にして投与した。薬物投与前、薬物投与1, 2, 3および4日後に、ラット10匹ずつを屠殺し、骨格筋を採取した。

また、対照群として、ウィスターリーン (Wistar lean) ラットの雄 (16週齢) 10匹を、薬物投与せずに屠殺し、骨格筋を採取した。

採取した骨格筋に、その湿重量の20重量倍の0.1Mトリス塩酸緩衝液 (pH7.6) [1M塩化ナトリウム、2% (w/w) ウシ血清アルブミン、2mMエチレンジアミンテトラ酢酸2ナトリウム塩 (EDTA)、アプロチニン (80トリプシン阻害ユニット/リットル) および0.02% (w/w) アジ化ナトリウムを含有] を加え、超音波処理後、15,000rpmで30分間遠心分離し、上清を得た。

得られる上清中のTNF- $\alpha$ を、試験例1と同様にして定量した。

結果を〔表3〕に示す。

【表3】 骨格筋中のTNF- $\alpha$ 量 (pg/g湿重量)

	薬物投与後の日数	TNF- $\alpha$ 量 (pg/g湿重量)
対照群	0 (投与前)	156.7 $\pm$ 61.9
本発明	0 (投与前)	356.6 $\pm$ 105.6
	1	200.1 $\pm$ 165.1 *
	2	181.4 $\pm$ 108.2 **
	3	105.1 $\pm$ 96.4 **
	4	107.3 $\pm$ 95.7 **

平均値 $\pm$ 標準偏差；本発明 (Wistar fattyラット使用) の薬物投与0日 (投与前) 群に対する有意差 (\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ )

〔表3〕から明らかなように、本発明化合物は、ラット骨格筋中のTNF- $\alpha$ 量を有意に、かつほぼ経時的に低下させた。

【0038】

試験例4（好中球活性酸素生成低下作用）

本発明化合物のインビトロ（in vitro）における好中球活性酸素生成低下効果を、細胞内過酸化物量を指標にして評価した。

すなわち、ウィスター（Wistar）ラットの雄（6週齢）より、ヘパリン加静脈採血し、採取した血液に等容量の血球分離用3%（w/w）デキストラン水溶液を混合した。混合液を、30分静置後、遠心分離して得られる沈渣を生理食塩水により懸濁し、この懸濁液をファイコール-ハイパック（Ficoll-Hypaque）液〔シグマ（sigma）社、米国〕に重層して遠心分離した。

得られる沈渣から、溶血操作により赤血球を除去し、好中球を分離した。

なお、溶血操作は次のようにして行った。すなわち、上記沈渣に氷冷した0.2%（w/w）塩化ナトリウム水溶液4mlを加えてすばやく懸濁し、20～30秒静置して赤血球を破壊させた。ついで、得られる懸濁液に氷冷した1.6%（w/w）塩化ナトリウム水溶液4mlを加えて混和し、破壊前の赤血球と等張の混和液を得た。該混和液を4℃、150×gで5分間遠心分離し、上清を捨て、沈渣をPBS（phosphate buffer saline）で洗浄した。

このようにして得た好中球を、生理食塩水で洗浄後、最小不可欠培地（minimum essential medium）培地を加えることにより、好中球浮遊液を作製した。得られる好中球浮遊液を、1チューブあたりの好中球数が106個となるように、チューブに分取した。

ついで、得られるチューブに、化合物No.1の塩酸塩または化合物No.8を1 $\mu$ Mの濃度で添加し、1時間培養後、蛍光色素〔DCFH-DA（2',7'-ジクロロフルオレセイン二酢酸）〕を添加し、FACSキャン（FACScan）（ベクトンディッキントン社、米国）を用いて蛍光強度を測定した。

また、対照群として、薬物を添加しない場合の蛍光強度を測定した。

なお、対照群の蛍光強度を100とした場合の薬物添加群の蛍光強度の相対値を算出し、これを好中球由来の活性酸素による過酸化物量とした。

結果を〔表4〕に示す。

【0039】

【表4】 蛍光強度および過酸化物量

	蛍光強度	過酸化物量
対照群	707	100
化合物No.1の塩酸塩（本発明）	466	66
対照群	377	100
化合物No.8（本発明）	242	64

〔表4〕から明らかなように、本発明化合物は、好中球の活性酸素生成を抑制した。

TNF- $\alpha$ は、単球、マクロファージをはじめ、好中球、繊維芽細胞、上皮細胞、アストロサイト等の種々の細胞から産生される。好中球では、TNF- $\alpha$ によって、活性酸素の産生が亢進し、このことが慢性関節リウマチの発症に密接に関連していることが示唆されている〔クリニカル・アンド・エクスペリメンタル・リウマトロジー（Clin. Exp. Rheumatol.）、15巻、233-237頁、1997年；インフラメーション（Inflammation）、20巻、427-438頁、1996年）〕。

したがって、試験例4の結果から、本発明化合物は、好中球のTNF- $\alpha$ 産生あるいはTNF- $\alpha$ 感受性を低下させることによって、活性酸素生成抑制効果を示したと考えられる。

【0040】

#### 【発明の効果】

本発明の抗炎症剤は、TNF- $\alpha$ が関与する炎症性疾患（例、糖尿病性合併症（例、網膜症、腎症、神経障害、大血管障害等）、慢性関節リウマチ、変形性脊椎症、変形性関節炎、腰痛、痛風、手術・外傷後の炎症、腫脹の緩解、神経痛、咽喉頭炎、膀胱炎、肝炎、肺炎等）の予防・治療剤として用いられる。

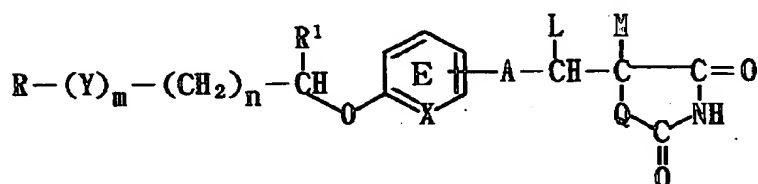
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 TNF- $\alpha$  が関与する炎症性疾患の予防および治療剤として有用な抗炎症剤を提供する。

【解決手段】 一般式

【化1】



〔式中、Rはそれぞれ置換されていてもよい炭化水素または複素環基；Yは-CO-、-CH(OH)-または-NR<sup>3</sup>-（ただしR<sup>3</sup>は置換されていてもよいアルキル基を示す。）で示される基；mは0または1；nは0、1または2；XはCHまたはN；Aは結合手または炭素数1～7の2価の脂肪族炭化水素基；Qは酸素原子または硫黄原子；R<sup>1</sup>は水素原子またはアルキル基をそれぞれ示す。環Eはさらに1～4個の置換基を有していてもよく、該置換基はR<sup>1</sup>と結合して環を形成していてもよい。LおよびMはそれぞれ水素原子を示すかあるいは互いに結合して結合手を形成していてもよい。〕で表される化合物またはその塩を含有してなり、TNF- $\alpha$  抑制効果を介して作用する抗炎症剤。

【選択図】 なし



【書類名】 職権訂正データ  
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000002934

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

【氏名又は名称】 武田薬品工業株式会社

【代理人】 申請人

【識別番号】 100073955

【住所又は居所】 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

武田薬品工業株式会社大阪工場内

【氏名又は名称】 朝日奈 忠夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100077012

【住所又は居所】 大阪府大阪市淀川区十三本町2-17-85 武田

薬品工業株式会社内

【氏名又は名称】 岩谷 龍

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000002934]

1. 変更年月日	1992年 1月22日
[変更理由]	住所変更
住 所	大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
氏 名	武田薬品工業株式会社